

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Pendekatan dan Jenis Penelitian

Pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan kuantitatif. Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen murni menggunakan design eksperimen murni *posttest only control design*.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu untuk proses pengasinan telur dilakukan di rumah produksi telur asin di desa Kotaanyar, pembuatan ekstrak di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang dan di Laboratorium Fitokimia Materia Medica Batu, pengujian *Total Plate Count* (TPC) di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Malang dan Pengujian Kualitas Sensoris di Rumah Produksi Telur Asin di Desa Kotaanyar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April sampai Juni 2019.

3.3 Populasi, Teknik Sampling dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini yaitu telur itik ras itik bali yang diperoleh dengan berat telur berkisar ± 60 g/butir.

3.3.2 Teknik Sampling

Teknik sampling dalam penelitian ini yaitu *simple random sampling*. Teknik pengambilan sampel dengan cara acak bertujuan agar sehingga setiap

satuan sampling yang ada dalam populasi mempunyai peluang yang sama untuk dipilih ke dalam sampel. Perhitungan jumlah sampel dapat dilihat pada Gambar 6.

Sample size :
 Rumus : $n = t.r, (t-1)(r-1) \geq 15$
 Keterangan : t = banyaknya kelompok perlakuan
 r = jumlah replika
 n = besar sampel
 $n = t.r$ atau $(t-1)(r-1) \geq 15$
 $= (12-1)(r-1) \geq 15$
 $= 12(r-1) \geq 15$
 $= 11r - 11 \geq 15$
 $r = \frac{26}{11} = 2,36$ (dibulatkan menjadi 3)
 ulangan yang digunakan adalah 3 kali
 $n = t.r$
 $= 12 \times 3 = 36$

Gambar 6. Perhitungan *sample size*

3.3.3 Sampel

Sampel dalam penelitian ini yaitu sebagian dari populasi. Besar sampel dalam penelitian berdasarkan rumus yaitu dengan jumlah telur itik 36 butir yang diperoleh dari peternak itik di Desa Semampir, Kecamatan Kraksaan, Kabupaten Probolinggo, tiap sampel diulang sebanyak 2 kali pengulangan. Penambahan sampel sebanyak 20% dari 36 (8 butir) dilakukan untuk mengantisipasi adanya telur itik yang rusak dan tidak dapat dianalisis lebih lanjut.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Jenis Variabel

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah jenis ekstrak bahan alami yang ditambahkan yaitu lengkuas merah (*Alpinia purpurata*), temulawak (*Curcuma zanthorrhiza*) dan kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) dan lama penyimpanan telur asin pasca pemeraman yaitu 0 hari, 7 hari, dan 14 hari.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah koloni mikroba dan kualitas sensoris (rasa, dan aroma) pada telur asin.

c. Variabel Kontrol

Perlakuan kontrol yaitu pembuatan telur asin tanpa penambahan ekstrak ekstrak lengkuas merah (*Alpinia purpurata*), temulawak (*Curcuma zanthorrhiza*) dan kunyit putih (*Curcuma zedoaria*). Variabel kontrol penelitian meliputi beberapa aspek berikut:

- a. Jenis telur yang digunakan adalah telur itik dengan ras itik gimbel/ itik bali dengan bobot ± 60 g/butir
- b. Suhu yang dipakai selama penyimpanan telur asin adalah suhu ruang (28°C .)
- c. Cara penyimpanan pada adonan pengasinan dilakukan dengan menyimpan pada *egg tray* yang sama selama 0 hari, 7 hari, dan 14 hari pasca pengasinan
- d. Metode pengasinan menggunakan sistem pemeraman menggunakan serbuk batu bata dan garam selama 7 hari.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Setiap variabel perlu di definisikan untuk mengurangi kesalahan dalam memaknai suatu kalimat yang digunakan dalam penelitian. Berikut adalah definisi operasional variabel yaitu:

1. Penambahan ekstrak bahan alami dalam penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Tahapan proses ekstraksi yaitu pengeringan bahan, penghancuran hingga menjadi bubuk, mencampur bubuk dengan pelarut etanol, penyaringan dengan vakum, penguapan dengan

evaporator. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian 50% dari jumlah larutan garam yang digunakan.

2. Perhitungan jumlah mikroba diperoleh dari sekumpulan dari mikroba sejenis yang membentuk kumpulan besar/ kelompok, jumlahnya dapat diketahui dengan menghitung total koloni mikroba secara manual atau menggunakan alat colony counter. Perhitungan dilakukan pasca melakukan pemeraman pada adonan pengasinan pada 0 hari, 7 hari, dan 14 hari di Laboratorium dengan metode yang digunakan untuk membiakkan mikroba adalah metode tuang.
3. Kualitas sensoris yaitu analisis ilmiah untuk mengukur, menganalisis, dan menginterpretasikan kualitas suatu bahan pangan melalui penggunaan indra manusia, dengan cara mengisi borang oleh panelis. Penilaian dilakukan dengan menilai telur asin yang diberi perlakuan menggunakan panca indra manusia dan skala hedonik.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

Pembuatan larutan pengasinan membutuhkan alat dan bahan yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pembuatan Larutan Pengasinan

No	Alat	Jumlah	Bahan	Jumlah
1	Ember	4 buah	Bubuk Batu Bata	1200 g/ 1,2 kg
2	Alat penumbuk	1 buah	Garam	600 g
3	Ayakan	1 buah	Air	0,4 liter/ 400 ml
4	Timbangan	1 buah	Telur itik	44 butir

Pembuatan ekstrak rimpang membutuhkan alat dan bahan yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pembuatan Ekstrak Rimpang

No	Alat	Jumlah	Bahan	Jumlah
1	Blender	1 buah	Kunyit Putih	3500 g/ 3,5 kg
2	Saringan 60 mesh	1 buah	Temulawak	3500 g/ 3,5 kg
3	Kain/ Koran	3 lembar	Lengkuas Merah	3500 g/ 3,5 kg
4	Oven	1 buah		
5	Timbangan	1 buah		
6	Evaporator	1 buah		
7	Ekstraktor	1 buah		
8	Pelarut etanol 96%	5 liter		
9	Beker glass	3 buah		
10	Corong	3buah		
11	Kertas Saring	3buah		

Pengujian jumlah koloni mikroba membutuhkan alat dan bahan yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji Jumlah Koloni Mikroba

No	Alat	Jumlah	Bahan	Jumlah
1	Cawan Petri	96 buah	Telur asin	24 butir
2	Spidol	1 buah	Aquades	secukupnya
3	Autoclaf	1 buah	Plastik wrap	1 pack
4	Colony counter	1 buah	Kertas Label	1 pack
5	Laminar Air Flow	1 buah	Tisu	1 gulung
6	Inkubator	1 buah	Media Agar(NA)	± 40,32 gr
7	Hotplate	1 buah		
8	Gelas Ukur 100 ml	1 buah		
9	Tabung Reaksi	96 buah		
10	Pipet Ukur	4 buah		

Pengujian kualitas sensoris membutuhkan alat dan bahan yang dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji Kualitas Sensoris

No	Alat	Jumlah	Bahan	Jumlah
1	Cawan	24 buah	Tisu	1 gulung
2	Nampan	1 buah	Air Mineral	15 gelas
3	Borang Pengujian	15 buah	Telur asin	24 butir
4	Alat Tulis	15 buah		

3.5.2 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan untuk menempatkan unit eksperimen yaitu menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktorial dengan penelitian terdiri dari 2 faktor yaitu faktor 1 dengan menggunakan 3 bahan diantaranya adalah penambahan ekstrak lengkuas merah (A), penambahan ekstrak temulawak (B), dan penambahan ekstrak kunyit putih (C) dan faktor 2 yaitu tiga ragam lama penyimpanan yaitu lama penyimpanan 1 = 0 hari, dan lama penyimpanan 2 = 7 hari dan lama penyimpanan 3 = 14 hari. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Tabel 7.

- a. Faktor 1 adalah penambahan ekstrak berbagai bahan alami yang terdiri dari 4 kategori:

O → sebagai perlakuan kontrol
 A → ekstrak lengkuas merah
 B → ekstrak temulawak
 C → ekstrak kunyit putih

- b. Faktor 2 adalah perlakuan lama penyimpanan yang berbeda yang terdiri dari 3 kategori:

H1 → penyimpanan hari ke 0
 H2 → penyimpanan hari ke 7
 H3 → penyimpanan hari ke 14

Tabel 7. Rancangan Penelitian (Kombinasi)

		Penambahan Ekstrak Berbagai Bahan Alami			
		K	A	B	C
Penyimpanan	H1	OH1	AH1	BH1	CH1
	H2	OH2	AH2	BH2	CH2
	H3	OH3	AH3	BH3	CH3

Denah RAL menggunakan 12 kelompok perlakuan yang diulang 2 kali. Penempatan setiap unit eksperimen dilakukan pada saat melakukan pemeraman telur itik pada suatu wadah yang digunakan untuk melakukan pemeraman. Dapat dilihat pada Gambar 7.

OH1(1)	AH1(1)	OH3(2)	CH3(1)	Keterangan: (1) = ulangan 1 (2) = ulangan 2
AH1(2)	AH2(2)	CH2(1)	OH3(1)	
BH2(2)	BH3(2)	BH1(1)	CH2(2)	
AH3(1)	OH1(2)	CH3(2)	CH1(1)	
OH2(2)	BH2(1)	CH1(2)	AH3(2)	
AH2(1)	BH1(2)	BH3(1)	OH2(1)	

Gambar 7. Denah RAL

3.5.3 Pelaksanaan dan Alur Penelitian

1. Pelaksanaan

a. Prosedur Pembuatan Ekstrak Bahan Alami

Proses pembuatan ekstrak tersebut dilakukan secara maserasi, yaitu dengan menyiapkan bahan baku yang telah dikupas kemudian dicuci bersih dan diiris tipis, kemudian dikering anginkan, kemudian dilakukan penggilingan dengan blender dan di ayak dengan ukuran 60 mesh, sehingga diperoleh bubuk. Masukkan bubuk sebanyak 250 g ke dalam labu ekstrak kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 2500 ml, kemudian homogenkan selama 24 jam. Melakukan penyaringan dengan kertas saring atau vakum. Filtrat hasil penyaringan kemudian

dikumpulkan dalam wadah kemudian pelarutnya diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C sampai tidak ada lagi pelarut yang menguap (Saputra & Sugihartono, 2011). Konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan dalam penelitian yaitu konsentrasi 50 ml (Lampiran 1). Dipilihnya metode ekstraksi dikarenakan lebih efektif dalam mengeluarkan zat aktif yang berada di dalam sel karena menggunakan cairan penyari atau pelarut tertentu yang sesuai dengan kelarutannya, ekstraksi merupakan proses yang sering dilakukan untuk menarik keluar zat aktif pada senyawa bahan alam (Najib, 2018).

b. Proses Pengasinan Metode Pemeraman

Tahap pertama yaitu pemilihan telur itik (sortasi) kemudian dicuci bersih dengan air dan dikeringkan. Setelah itu telur dimasukkan kedalam adonan pengasinan yang terdiri dari serbuk bata, garam dan air dan penambahan ekstrak lengkuas merah, ekstrak temulawak dan ekstrak kunyit putih, lalu dihomogenkan. Kemudian telur diperam dalam adonan pengasinan (Lampiran 2). Pada penelitian ini lama pemeraman yang dilakukan adalah 7 hari dikarenakan berdasarkan hasil wawancara kepada beberapa produsen telur asin di Kabupaten Probolinggo lama pengasinan yang dipakai untuk memproduksi telur asin adalah 7 hari, lama pengasinan tersebut memiliki tingkat kesukaan konsumen yang lebih tinggi. Menurut Suprpti (2002), pemeraman telur itik ke dalam adonan pengasinan dilakukan selama 7-10 hari.

Menurut Penelitian Wibowo et al. (2017) untuk membuat adonan pengasinan telur itik menggunakan perbandingan serbuk batu bata dan garam (2:1). Dalam penelitian digunakan 300 g serbuk batu bata dan 150 g garam, 150 g garam

kemudian dilarutkan dengan air hingga menjadi 100ml larutan garam pekat, kemudian dihomogenkan dengan serbuk batu bata di dalam sebuah ember, adonan yang dihasilkan cukup untuk memeras 6-8 butir telur itik. Takaran bahan tersebut diperoleh dari hasil percobaan dan wawancara dengan beberapa produsen telur asin di Kecamatan Kotaanyar. Dikarenakan terdapat 4 ragam perlakuan sehingga kebutuhan serbuk batu bata, garam, air dan ember dikalikan 4. Konsentrasi ekstrak yang ditambahkan dalam penelitian yaitu 50 ml. Pemilihan konsentrasi tersebut dikarenakan berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Lestary et al., (2015) pemberian terbaik ekstrak bahan pengawet alami pada proses pengasinan yaitu 40% (40 ml) dari total volume larutan garam yang digunakan. Dipilih konsentrasi yang lebih tinggi lagi untuk membedakan dengan penelitian sebelumnya, yaitu konsentrasi yaitu 50% (50 ml) dari total volume larutan garam yang digunakan. Penentuan ekstrak bahan pengawet alami yang akan ditambahkan pada proses pembuatan telur asin yaitu 50 ml ekstrak + 100 ml volume larutan garam.

Setelah pemeraman telur pada larutan pengasinan, telur kemudian dicuci kembali, selanjutnya disimpan pada suhu ruang 28°C , kemudian dilakukan analisis pasca melakukan pemeraman pada adonan pengasinan yaitu pada lama penyimpanan 0 hari, 7 hari, dan 14 hari. Penyimpanan 0 hari dibutuhkan untuk mengetahui jumlah koloni mikroba dan daya terima panelis pada perlakuan pasca pengasinan (sebelum dilakukan perlakuan penyimpanan), kemudian menurut Novia et al., (2011) telur asin memiliki umur simpan berkisar 7 hari, sehingga peneliti ingin melihat jumlah koloni mikroba dan daya terima panelis pada kisaran

lama penyimpanan 7 hari, dan penyimpanan 14 hari digunakan sebagai perbandingan untuk mengetahui pada lama penyimpanan tersebut masih dalam ambang batas yang aman dikonsumsi atau tidak. Selama penyimpanan, telur asin tidak dilakukan proses perebusan/ pemasakan. Pengujian uji total koloni mikroba pada telur asin dilakukan dalam keadaan mentah, akan tetapi untuk pengujian kualitas sensoris dilakukan proses perebusan terlebih dahulu.

c. Perhitungan Jumlah Koloni Mikroba

Analisis mikrobiologi menggunakan *Total Plate Count* metode tuang (pour plate) dan disebar pada suatu medium yang dalam hal ini menggunakan media NA (Nutrien Agar). Perhitungan pembuatan nutrien agar dapat dilihat pada Rumus 4).

$$\text{Gram NA} = \text{Jumlah cawan petri} / 1000 \times 15 \text{ ml} \times \text{standart} \quad 2)$$

Isi telur (kuning telur dan putih telur) yang telah dihomogenkan sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis steril (Aquades steril). Campuran dihomegenkan dan didapatkan pengenceran satu per sepuluh (P-1). Selanjutnya dari P-1 dipipet sebanyak 1 ml dan dilarutkan ke dalam 9 ml larutan pengencer untuk memperoleh P-2 begitu seterusnya hingga memperoleh pengenceran P-6. Kemudian media di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perhitungan dilakukan pada telur asin menggunakan colony counter atau jumlah koloni bakteri dapat dihitung manual dengan menggunakan rumus (Andriyanto et al., 2013), dapat dilihat pada Rumus 5).

$$\text{Koloni (per ml/g)} = \text{jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}} \quad 3)$$

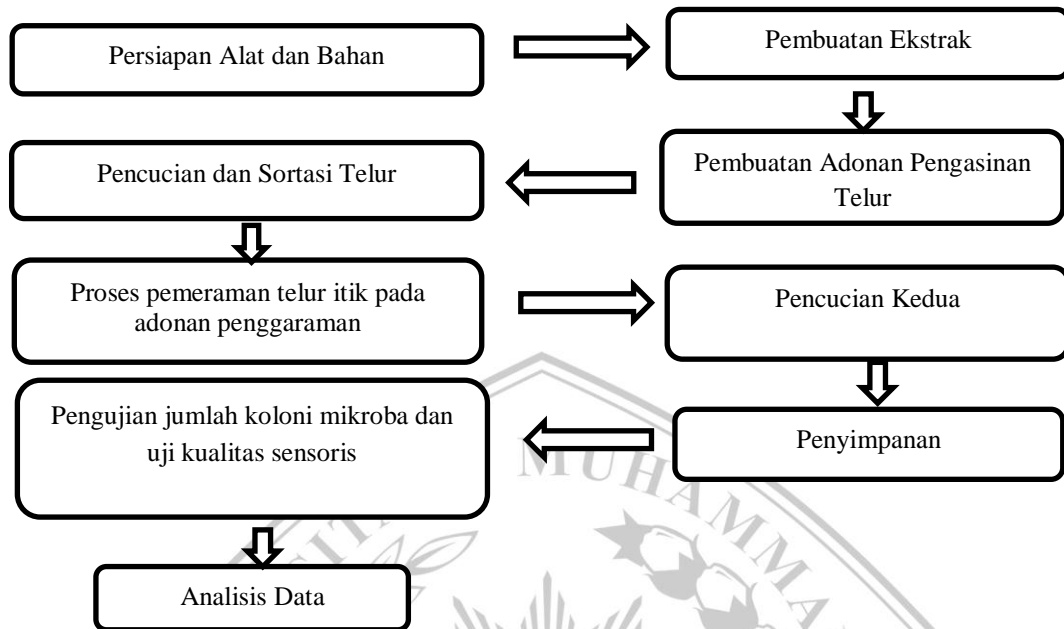
Sarat perhitungan jumlah koloni yaitu yang dihitung adalah cawan dengan jumlah koloni 30-300, jika jumlah koloni yang tumbuh kurang dari 30 maka nyatakan bakteri lebih kecil dari 30 dengan dikalikan pengenceran terendah. Jika tidak ada koloni yang tumbuh nyatakan hasil sebagai nol koloni per gram/ml dikalikan faktor pengenceran terendah. Analisis jumlah koloni mikroba dilakukan pada telur asin mentah dengan perlakuan lama penyimpanan 0 hari, 7 hari dan 14 hari (pasca pemeraman pada adonan pengasinan selama 7 hari) (Lampiran 3).

d. Uji Kualitas Sensoris

Analisis sensoris menggunakan uji hedonik. Analisis dilakukan dengan penilaian borang pengujian oleh panelis. Panelis yang dipilih adalah panelis terlatih, yaitu produsen telur asin di Kabupaten Probolinggo menggunakan 15 panelis. Panelis mendengarkan pengarahan dan mulai menilai tingkat kesukaan pada instrumen penilaian tingkat kesukaan panelis yang disediakan. Bahan yang diuji adalah telur asin dengan perlakuan penambahan ekstrak lengkuas merah, temulawak, kunyit putih dan kontrol (Lampiran 4).

2. Alur Penelitian

Alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Alur penelitian

3.6 Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data pada penelitian ini adalah menggunakan metode yang bersifat mengukur yaitu metode tes dengan melakukan uji di Laboratorium dan hasil analisis hasil pengisian borang oleh panelis.

3.6.1 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data yang digunakan adalah observasi eksperimen. Observasi dalam penelitian ini adalah mengambil data tentang jumlah koloni mikroba pada lama penyimpanan yang berbeda pada telur asin yang telah diberi perlakuan. Data diperoleh dari hasil pengujian TPC (*Total Plate Count*) (Lampiran 5), dengan metode tuang dan dengan perhitungan melalui colony

counter. Pengumpulan data uji kualitas sensoris yaitu dengan pengisian borang uji yang melibatkan penilaian rasa dan aroma (Lampiran 6).

3.7 Teknik Analisis Data

Analisa deskriptif kuantitatif berupa data jumlah koloni bakteri dan uji kualitas sensoris pada telur asin. Langkah selanjutnya yang harus dilakukan yaitu mengetahui data tersebut berdistribusi normal dan variasi datanya homogen. Tahap selanjutnya data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode analisis ragam *Analysis of Variance* (ANOVA) dua arah. Apabila hasil uji menunjukkan adanya pengaruh yang nyata maka dilakukan uji lanjutan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan aplikasi SPSS Statistic 22. Apabila asumsi dasar tidak memenuhi (tidak normal tidak homogen) maka uji menggunakan statistik non parametrik seperti Kruskal Wallis dengan uji beda yang digunakan yaitu uji Mann Whitney.